

TRABAJO PRÁCTICO N°6

BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS y COLESTEROL

OBJETIVOS

- ✚ Entender el proceso de biosíntesis de ácidos grasos
- ✚ Comprender el proceso de biosíntesis del colesterol

La síntesis de ácidos grasos, o lipogénesis, consiste en una serie de reacciones cíclicas en las que se construye una molécula de ácido graso mediante la adición secuencial de unidades de dos carbonos derivadas de acetil-CoA. Cuando la dieta supera las necesidades calóricas, el exceso de acetil-CoA es derivado hacia la síntesis de ácidos grasos. Esta síntesis predomina en órganos y tejidos como hígado, tejido adiposo y glándula mamaria en períodos de lactancia. En este proceso que ocurre en el **citosol** interviene un complejo enzimático denominado “**ácido graso sintasa**” (FAS, del inglés “fatty acid synthase”), los intermediarios que se forman durante la biosíntesis están unidos a una proteína portadora de acilos (**PTA o ACP**).

Los precursores de este proceso de biosíntesis son: **Acetil-CoA** y **Malonil-CoA**. El poder reductor lo provee el NADPH proveniente de la vía de las pentosas-fosfato o el Ciclo citrato-piruvato (vía de la *enzima málica*) (Fig. 6.1).

Producción de acetil-CoA y transporte desde la mitocondria al citosol

Como los ácidos grasos se sintetizan en el citosol a partir de acetil-CoA y ésta se genera principalmente en la matriz mitocondrial, es necesario transferirlo al citoplasma. La membrana interna de las mitocondrias no es permeable a acetil-CoA, por lo que el citrato atraviesa la membrana a través de un transportador y luego en citoplasma es escindido por acción de la enzima *citrato liasa*, en la cual participan coenzima A y ATP, se regeneran acetil-CoA y oxalacetato.

El Acetil-CoA es utilizado para la síntesis de ácidos grasos y el oxalacetato sufre una serie de reacciones a través de las cuales se transforma malato o piruvato, que disponen de transportadores en la membrana mitocondrial. El oxalacetato es reducido a malato por *malato deshidrogenasa* citosólica y luego descarboxilado a piruvato por la *enzima málica*, ligada a NADP.

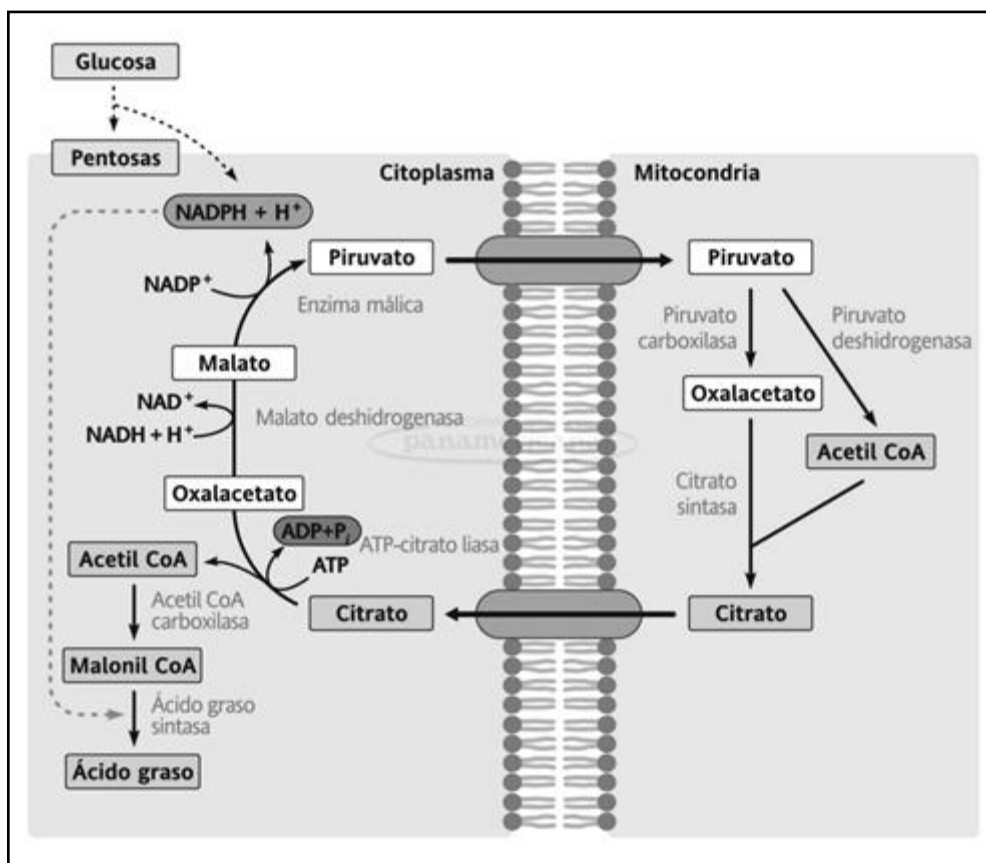
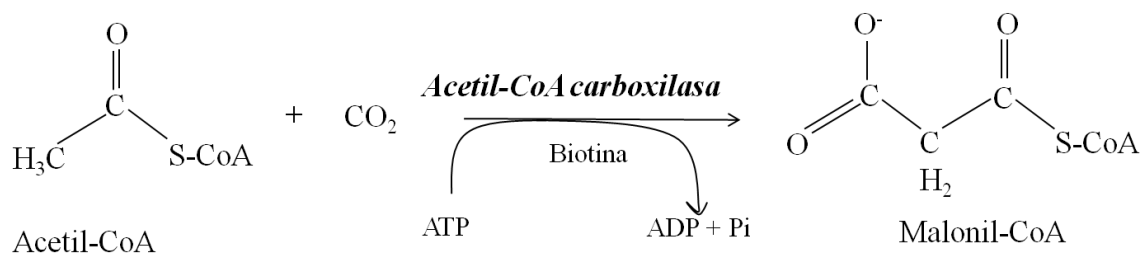


Fig 6.1 Ciclo del citrato-piruvato. Origen del citrato y acción de la *acetil-CoA carboxilasa*.

Feduchi, Blasco, Romero, Yáñez. "Bioquímica. Conceptos esenciales". 1º Edición.

SÍNTESIS DE MALONIL-COA

El malonil-CoA se sintetiza por carboxilación del acetil-CoA, reacción catalizada por la enzima *acetil-CoA-carboxilasa*, con **biotina** como coenzima. La reacción se acopla a la hidrólisis del ATP y es el principal sitio de regulación de la biosíntesis de ácidos grasos.



La *acetil-CoA carboxilasa* es regulada por fosforilación/desfosforilación (regulación covalente). La adición de fosfato, catalizada por *quinasas* dependientes de glucagón, la inactivan. La activación es catalizada por *fosfatasa* estimulada por insulina. Además, la insulina induce la síntesis

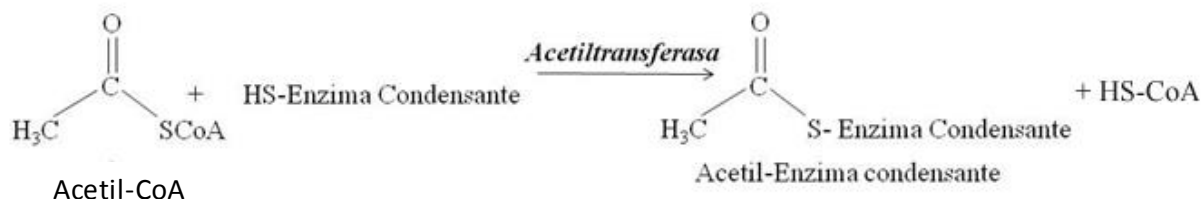
de *Acetil-CoA carboxilasa*. Esta enzima también es regulada alostéricamente, siendo activada por citrato, efecto revertido por la presencia de acil-CoA de cadena larga.

A continuación se enumeran las reacciones que conducen a la síntesis de palmitato en los organismos superiores y bacterias.

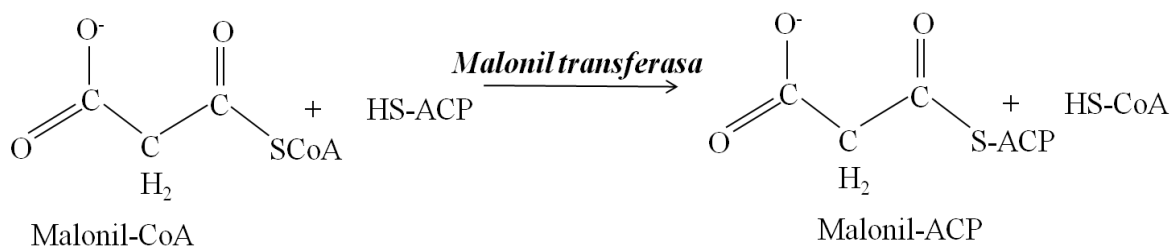
ETAPAS DE LA BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

El complejo *ácido graso sintasa*, compuesto por siete enzimas: *acetil transferasa*, *malonil transferasa*, *enzima condensante*, β -*cetoacil reductasa*, *3-hidroxiacil-deshidratasa*, *enol reductasa*, *tioesterasa* y la proteína transportadora (PTA o ACP). Las reacciones que tienen lugar son:

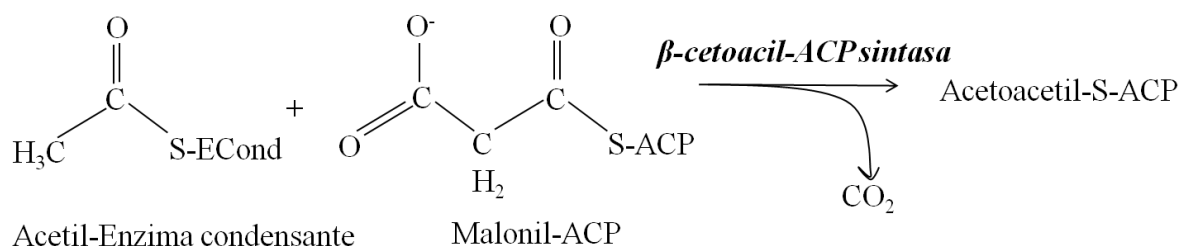
1°- Adición de grupo acetilo: La *acetil transferasa* cataliza la transferencia del grupo acetilo del acetil-CoA al grupo tiol (SH) de la *enzima condensante*.



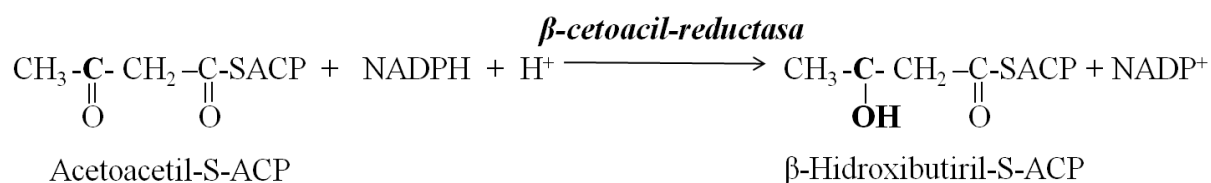
2°- Adición de grupo malonil: Luego, la enzima *malonil transferasa* transfiere el grupo malonil del malonil-CoA a la proteína transportadora de acilos.



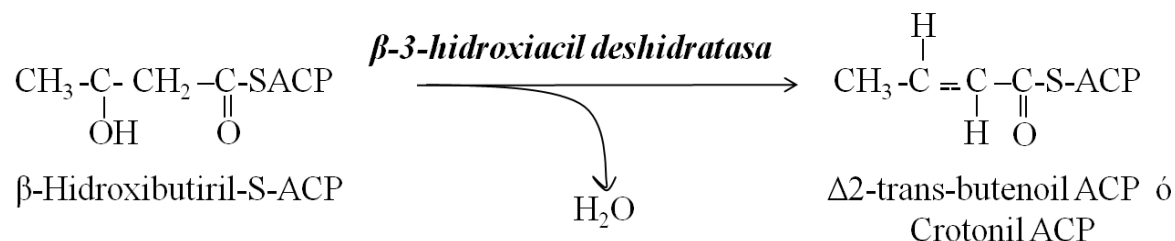
3°-Condensación: La *enzima condensadora* (β -*cetoacil-sintasa*) cataliza la condensación de los grupos acetil (2C) y malonil (3C) para formar acetoacetyl-ACP (4C). El CO_2 que ingresó en la biosíntesis de malonil CoA es liberado en esta reacción, de manera que la molécula no interviene en la síntesis neta del ácido.



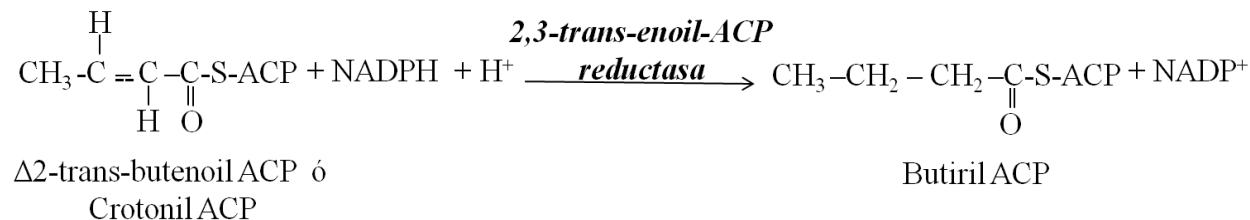
4°- Primera Reducción: El grupo ceto situado en C3 (el carbono β) del acetoacetil-ACP se reduce a grupo alcohólico en una reacción catalizada por β -cetoacil reductasa, en la cual se transfieren hidrógenos desde NADPH para formar 3-hidroxibutiril-ACP.



5°- Deshidratación: el 3-hidroxibutiril-ACP pierde una molécula de agua en reacción catalizada por β -3-hidroxiacil-deshidratasa, se forma un acilo insaturado entre los carbonos 2 y 3.



6°- Segunda Reducción: la *enol reductasa*, cataliza la segunda reducción, produciendo una cadena de acilo graso saturada de cuatro carbonos. Se forma butiril-ACP. Con esto se completa el primer ciclo de elongación.

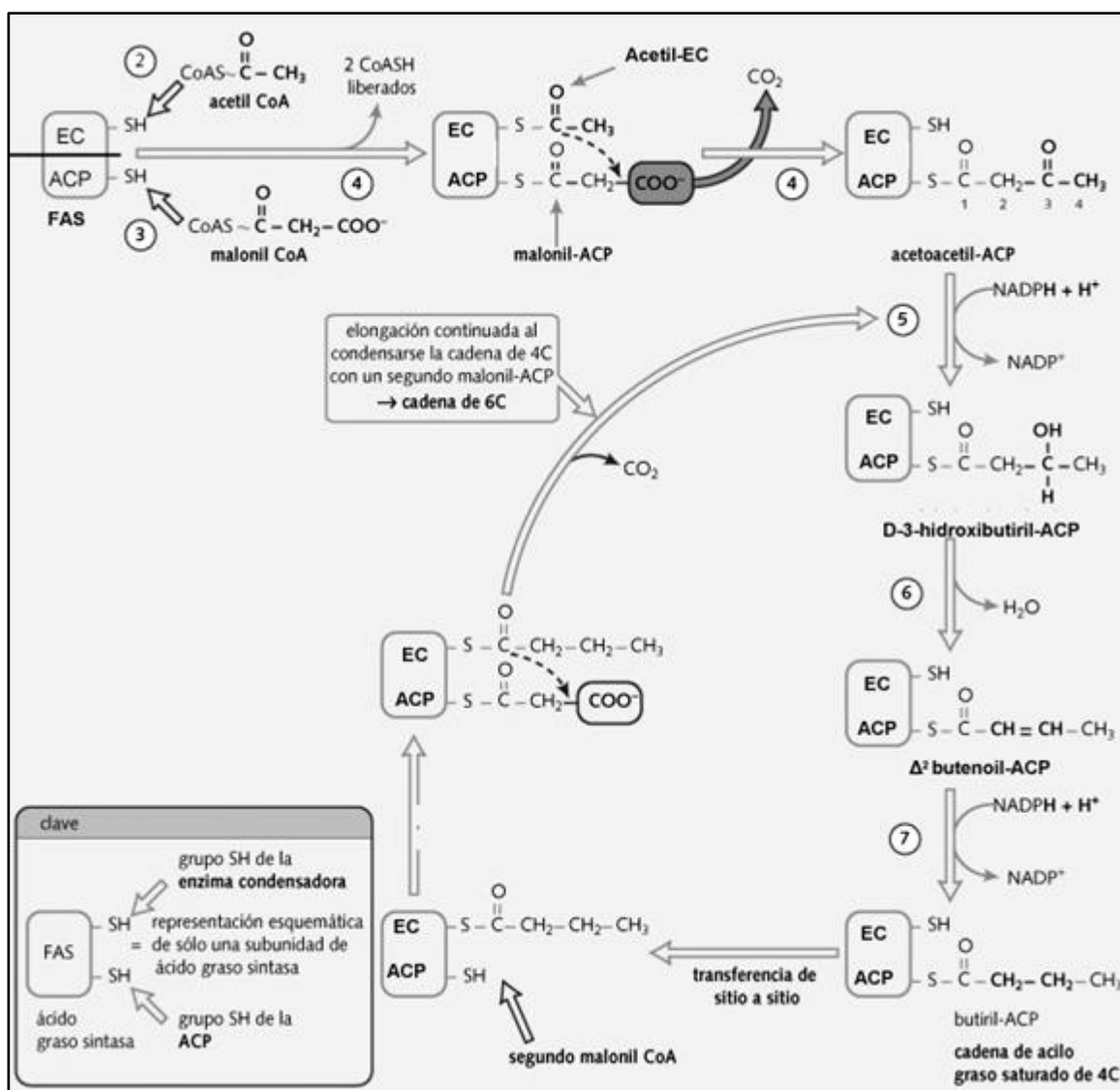


El butiril-ACP se une a la enzima condensante y otro malonil-CoA se une al ACP, se repite 7 veces el ciclo de reacciones **1 a 4**, finalmente se sintetiza **palmitoil-ACP**. El palmitato se separa por hidrólisis a través de una reacción catalizada por la enzima *tioesterasa*.

Tioesterasa



A continuación se representa un esquema que incluye las reacciones antes detalladas del proceso de biosíntesis de ácidos grasos:



Etapa	Reacción	Enzima
1	$\text{Acetil-CoA} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \longrightarrow \text{Malonil-CoA} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{H}^+$	Acetil-CoA carboxilasa
2	$\text{Acetil-CoA} + \text{HS-EC} \longrightarrow \text{Acetil-EC} + \text{CoA}$	Acetil transferasa
3	$\text{Malonil-CoA} + \text{ACP} \longrightarrow \text{Malonil-ACP} + \text{CoA}$	Malonil transferasa
4	$\text{Acetil-EC} + \text{Malonil-ACP} \longrightarrow \text{Acetoacetyl-ACP} + \text{HS-EC} + \text{CO}_2$	Enzima condensante
5	$\text{Acetoacetyl-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{D-3-OH-butilil-ACP} + \text{NADP}^+$	β -Cetoacil-reductasa
6	$\text{D-3-OH-butilil-ACP} \longrightarrow \Delta^2 \text{ butenoil-ACP} + \text{H}_2\text{O}$	3-OH-acil deshidratasa
7	$\Delta^2 \text{ butenoil-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{Butilil-ACP} + \text{NADP}^+$	Enoil-ACP reductasa

Fig 6.2. Reacciones involucradas en la biosíntesis de ácidos grasos. Modificado desde Benyon,S. “Metabolismo y Nutrición”, 3º Edición.

Para sintetizar una molécula de Palmitato se requieren 7 moles de ATP utilizadas para la síntesis de 7 moléculas de malonil-CoA y 14 moléculas de NADPH utilizadas en las 2 etapas de reducción de cada uno de los 7 ciclos.

Comparación de la síntesis y degradación de los ácidos grasos

	Síntesis	Degradación
Activa	Tras comidas, situación post-prandial	Ayuno y ejercicio prolongado
Principales tejidos implicados	Hígado y tejido adiposo	Músculo e hígado
Ubicación celular	Citosol	Mitocondria
Donante/ producto de 2C	Acetil-CoA (malonil CoA)	Acetil-CoA
Transportador de ácido graso activo	Unido a ACP	Unido a CoA
Enzimas	Complejo multienzimático Ácido Graso Sintasa	Probablemente no asociadas.
Oxidante / reductor	NADPH	NAD^+ y FAD

Control alostérico	El citrato activa la acetil-CoA carboxilasa, el palmitoil-CoA la inhibe.	Malonil-CoA inhibe la carnitina-acil-transferasa I
Control hormonal	La insulina activa la acetil-CoA carboxilasa, la adrenalina y el glucagón la inhiben.	La adrenalina y el glucagón activan la lipasa, la insulina la inhibe
Producto	Palmitato.	Acetil CoA

METABOLISMO DEL COLESTEROL

El colesterol, alcohol esteroide característico de los tejidos animales, desempeña una serie de funciones esenciales en el organismo y por lo tanto requiere de un aporte continuo.

Entre las funciones que desempeña el colesterol podemos citar:

- Es un componente esencial de las membranas celulares.
- Es un precursor de los cinco tipos principales de hormonas esteroideas: progestágenos, estrógenos, andrógenos, glucocorticoides y mineralocorticoides.
- Es un precursor de los ácidos biliares y de la vitamina D.

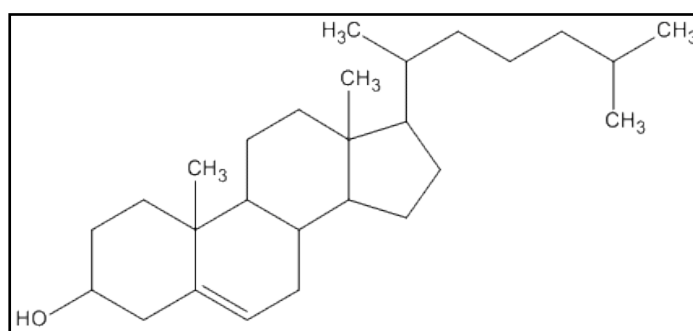
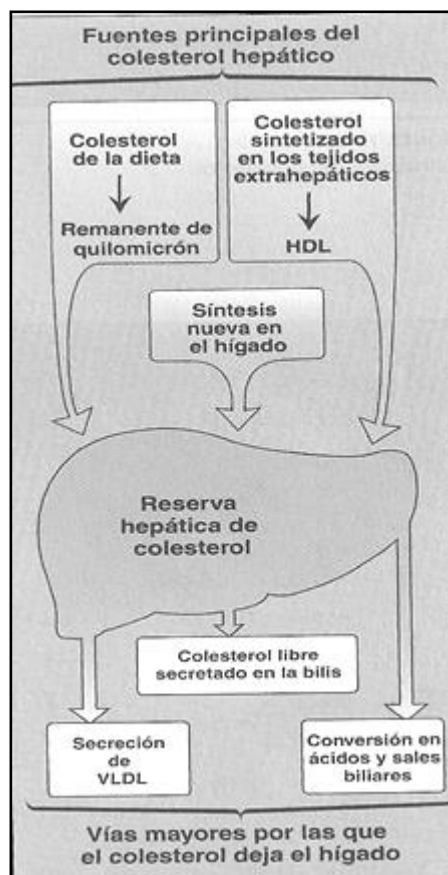


Fig 6.3. Estructura química de colesterol.

Fuentes del colesterol



El colesterol ingresa en su reserva hepática a partir de la dieta o a través de síntesis endógena o “de *novo*” por los tejidos extrahepáticos y por el propio hígado. Se elimina desde el hígado que lo convierte en sales biliares que se secretan hacia la luz intestinal o como colesterol sin modificar en la bilis. También puede ser transportado por las lipoproteínas plasmáticas que lo envían hacia los tejidos periféricos. El ser humano no puede degradar el colesterol por lo que la homeostasis se logra eliminándolo por vía biliar. Si se pierde el balance entre la ganancia y la pérdida de colesterol, éste se deposita de manera gradual en los tejidos, sobre todo en las cubiertas endoteliales de los vasos sanguíneos. El hecho anterior puede convertirse en un riesgo potencial para la vida si el depósito de lípidos resulta en formación de placa, estrechamiento de la luz de los vasos sanguíneos (ateroesclerosis) y aumento del riesgo de enfermedad de arteria coronaria (EAC).

Fig 6.4. Esquema resumido del origen de colesterol en el organismo. Champe P., “Bioquímica”, 3º Edición.

Síntesis de colesterol

Casi todos los tejidos del hombre sintetizan colesterol, aunque las mayores contribuciones a la reserva corporal de este lípido están a cargo del hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos de la reproducción (como ovarios, testículos y placenta).

La síntesis de colesterol se divide en dos estadios:

Estadio I

1- Formación de HMG-CoA a partir del acetil-CoA:

dos moléculas de acetil CoA se condensan para formar acetoacetil-CoA (4C). La *HMG-CoA sintasa* cataliza la adición de una tercera molécula de acetil-CoA para formar 3-OH-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (6C). El HMG-CoA también es el intermediario en la síntesis de cuerpos cetónicos. Sin embargo, la formación de cuerpos cetónicos tiene lugar en la mitocondria, mientras que las reacciones de síntesis de colesterol ocurren en el citosol celular. Por tanto, el hígado contiene dos isoenzimas de la *HMG-CoA sintasa*: una enzima citosólica para la síntesis de colesterol y otra mitocondrial para la formación de los cuerpos cetónicos.

2- Reducción del HMG-CoA a ácido mevalónico (mevalonato):

este es el paso irreversible que limita la velocidad de síntesis del colesterol y, de este modo, es la etapa limitante del ritmo en la síntesis del mismo. La enzima *HMG-CoA reductasa* requiere NADPH como agente reductor.

3-Fosforilación y descarboxilación de mevalonato a

Isopentil-pirofosfato: el mevalonato se convierte en isopentil-pirofosfato (IPP) por medio de reacciones de fosforilación y descarboxilación con consumo de tres moléculas de ATP.

Estadio II

Comprende 6 etapas en las que se producen reacciones de isomerización, transferencia de grupos y condensaciones que dan como resultado la formación de la molécula de colesterol

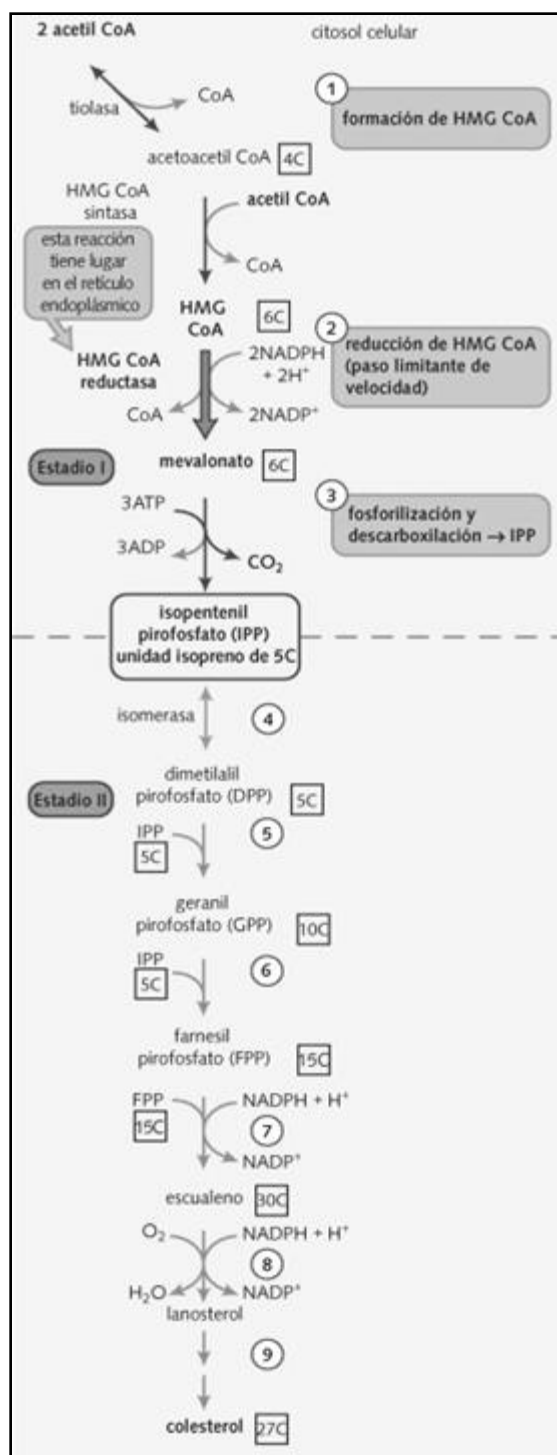


Fig 6.5. Reacciones involucradas en la síntesis de *novo* de colesterol. Benyon S. "Lo esencial en metabolismo y nutrición", 3º Edición.

Regulación de la síntesis de colesterol

La regulación en la producción de colesterol es necesaria para evitar la elevación de los niveles del colesterol plasmático, lo que podría conducir al depósito de colesterol en las paredes de las arterias y subsecuente formación de placas ateroscleróticas o ateromas.

-Regulación a corto plazo: la *HMG-CoA reductasa* es regulada por **modificación covalente** (fosforilación-desfosforilación), la forma fosforilada es inactiva. Glucagón promueve la inactivación de esta enzima por acción de una quinasa. La forma activa de esta reductasa se genera por desfosforilación catalizada por una fosfatasa estimulada por insulina. Esta enzima también es regulada de manera **alostérica**, siendo el colesterol un modulador negativo. En hígado, las sales biliares también ejercen una modulación alostérica sobre esta enzima, actuando como moduladores negativos.

-Inhibición por fármacos: los fármacos llamados “estatinas” (entre ellos sinvastatina, lovastatina, y mevastatina) son análogos del HMG-CoA e inhibidores competitivos reversibles de la *HMG-CoA-reductasa*. Se utilizan para disminuir los niveles plasmáticos de colesterol en pacientes que experimentan hipercolesterolemia.

-Regulación a largo plazo de la *HMG-CoA-reductasa*: Un nivel alto de colesterol en las células origina una disminución de la velocidad de transcripción del **gen** de la *HMG-CoA-reductasa*, inhibiéndolo, lo que produce una reducción secundaria de la síntesis de colesterol.

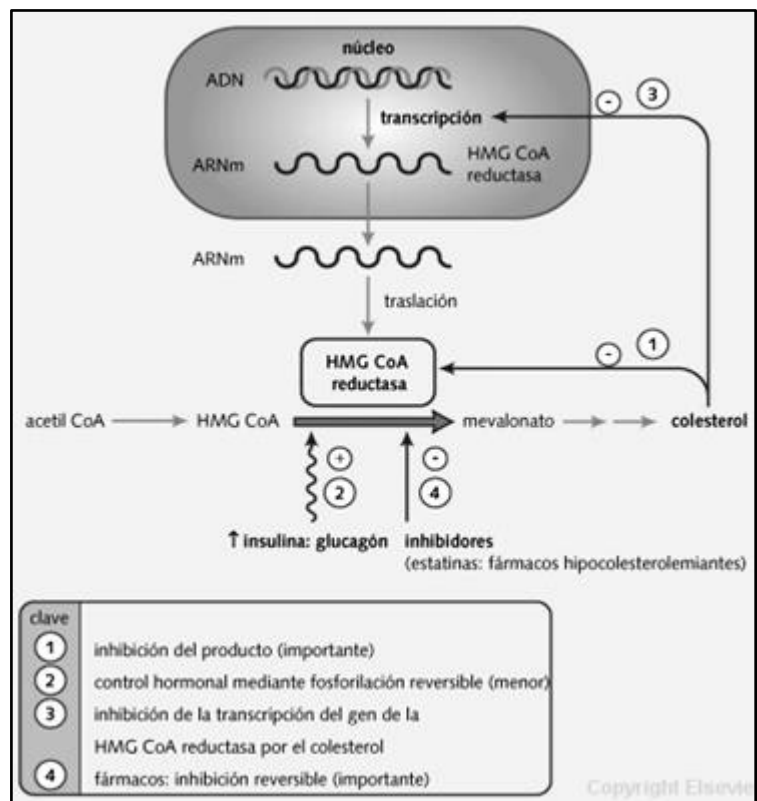


Fig 6.6. Regulación de la síntesis de colesterol. Benyon S. “Lo esencial en metabolismo y nutrición”. 3ª Edición.

La mayoría del colesterol de la sangre se encuentra en forma de ésteres de colesterol, formados por la adición de un ácido graso al grupo OH de C3. La esterificación permite que el colesterol sea más hidrofóbico, capacitándolo para ser empaquetado y almacenado fácilmente. Dos sistemas enzimáticos son responsables de la esterificación del colesterol:

-En las células, si el colesterol captado o sintetizado *de novo* no se necesita inmediatamente, es esterificado por la *acil-CoA colesterol-acil-transferasa* (ACAT). La ACAT transfiere un ácido graso de un acil-graso-CoA al colesterol, formando un éster de colesterol que puede ser almacenado en la célula.

-Asociadas a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se encuentra una enzima similar, la *lecitin-colesterol-acil-transferasa* (LCAT) que cataliza la transferencia de un ácido graso desde fosfatidilcolina al colesterol. De esta manera las HDL transportan los ésteres del colesterol al hígado para ser reutilizados o excretados.

BIBLIOGRAFÍA

BLANCO, A., "Química Biológica", Ed. El Ateneo, 8° Edición, Bs.As, 2006. Reimpresión año 2007.

FEDUCHI, E, BLASCO I, ROMERO, C , YAÑEZ, E. Bioquímica. Conceptos esenciales, Editorial Panamericana, 1° Edición, 2010. Reimpresión año 2011.

LEHNINGER, A.L., NELSON, D., COX, M., "Principios de Bioquímica", Editorial Omega, S.A., 4° Edición, 2006. Reimpresión año 2008.

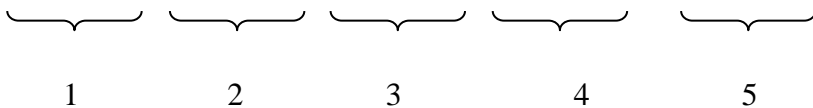
CHAMPE, HARVEY, FERRIER, "Bioquímica", Editorial Mac Graw- Hill Interamericana, 3° Edición, 2005.

BENYON S, "Lo esencial en metabolismo y nutrición", Editorial Harcourt Brace, 3° Edición, 2010.

TRABAJO PRÁCTICO N°6
BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS y COLESTEROL
PROBLEMAS DE APLICACIÓN

BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS SATURADOS

1. Un paciente de 45 años, de costumbres sedentarias, consume una dieta rica en carbohidratos. ¿Qué destino tendrán estos carbohidratos? ¿Qué hormona entra en juego en un estado posprandial y a nivel de qué enzima realiza su acción en el metabolismo de lípidos?
2. Un extracto de hígado contiene todas las enzimas y los cofactores necesarios para catalizar la transformación de acetilCoA a palmitato y CoA.
 - a) Cuántos ATP se requieren para dicha síntesis a partir de Acetil CoA? ¿En qué reacción se produce el gasto de ATP?
 - b) Cuántas moléculas de NADPH?
3. Suponga que el ácido graso de 10 carbonos esquematizado abajo, fue sintetizado por el sistema de la ácido graso sintasa. Indique si los fragmentos señalados provienen de acetil-CoA o de Malonil-CoA.



Nombre las reacciones que constituyen un ciclo de síntesis, qué cofactor requieren y origen del mismo.

4. Cuántas moléculas de glucosa se convierten en ribulosa-5P cuando una molécula de ác. palmítico se sintetiza a partir de acetil-CoA? Considere que los carbonos del oxalacetato producido por el clivaje del citrato, regresan a la mitocondria a través de malato y no por el piruvato que podría obtenerse por acción de la enzima málica

METABOLISMO DE COLESTEROL

5. Un paciente presenta hipercolesterolemia, se le recomienda dieta hipocalórica con bajo contenido en grasas y carbohidratos y realizar ejercicio durante 30 minutos diariamente.
- En un esquema explique el sentido de estas recomendaciones.
 - A pesar de cumplir la dieta y el ejercicio, los niveles de colesterol en sangre continúan siendo altos y el médico administra fármacos. ¿Qué tipo de fármacos se utilizan y a qué nivel del metabolismo del colesterol actúan?

PROBLEMAS PROPUESTOS

- ¿En qué lugar de la célula ocurre la biosíntesis de ácidos grasos? ¿Cuál es el origen del Acetil-CoA empleado en la misma?
 - ¿Cómo llega al citoplasma la acetil-CoA generada dentro de las mitocondrias, necesaria para iniciar la biosíntesis?
 - ¿Cuál es la enzima reguladora de la velocidad en la biosíntesis de ácidos grasos? Diga cuáles son sus moduladores. Esquematice la reacción.
4. Complete el siguiente cuadro

	SÍNTESIS	DEGRADACIÓN
Situación metabólica en la que se activa el proceso		
Estado hormonal que favorece la vía		
Sitio tisular principal		
Localización subcelular		

Transportadores de grupos acilo/acetilo entre mitocondrias y citosol		
Cofactores de oxidación y reducción		
Producto de la vía		

5. El catabolismo de triglicéridos en el hígado produce síntesis neta de glucosa, sin embargo los ácidos grasos no participan en dicha síntesis. Explicar

